

DR-24

РАЗРАБОТКА МНОГОПРАЙМЕРНОЙ СИСТЕМЫ С ОТКРЫТОЙ АРХИТЕКТУРОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННОЙ ПНЕВМОНИИ

С. А. Лапа¹, Е. С. Клочихина¹, Р. А. Мифтахов¹, А. С. Заседателев¹, А. В. Чудинов¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32. E-mail: lapa@biochip.ru

Инфекционная пневмония – острый воспалительный процесс легочной ткани, вызываемый широким рядом возбудителей бактериальной, вирусной и грибковой природы: стафилококки, стрептококки, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, вирусы гриппа А и В и другие. Специализированные лечебные учреждения, в которые поступают пациенты с клиническим диагнозом «пневмония», сталкиваются с проблемой установления этиологии заболевания и быстрой идентификации возбудителя, поскольку часто вирусные и бактериальные пневмонии характеризуются сходной клинической картиной. От своевременной постановки точного диагноза зависит правильный подбор препаратов и стратегия лечения пациента [1]. Сложившаяся ситуация сигнализирует об острой необходимости создания экспресс-методов дифференциальной диагностики.

Сложность разработки открытых тест-систем, пригодных для дальнейшего расширения, заключается в необходимости обеспечения корректной работы праймеров в мультиплексной ПЦР. Нами разработана мультипраймерная система с открытой архитектурой для быстрого выявления возбудителей бактериальной и вирусной пневмонии.

Наиболее распространенные возбудители пневмонии относятся к нескольким бактериальным и вирусным родам [2]. Для шести бактериальных и двух вирусных видов (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae*, SARS-CoV-2, *Influenza A*) были выбраны генетические мишени и сконструированы праймеры для осуществления мультиплексной ПЦР. Проводили оптимизацию температурно-временного профиля ПЦР с применением градиентной ПЦР, а также состава компонентов буфера и концентрации каждого из праймеров в смеси. Экспериментально определяли специфичность праймеров к целевым и нецелевым мишеням (используя тотальную геномную ДНК каждого из тестируемых штаммов), как в режиме применения индивидуальных ДНК-матриц, так и в режиме смесей ДНК нескольких возбудителей в одной пробирке. Определяли чувствительность сконструированной тест-системы раститровкой ДНК каждого из анализируемых возбудителей, которая составила от 10^2 до 10^3 копий геномной ДНК.

Разработанная система подходит для применения в диагностических лабораториях, специализирующихся на клинических анализах с использованием ПЦР и РТ-ПЦР.

Библиографический список

1. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight / Z. Song, Y. Xu, L. Bao [et al] // *Viruses* – 2019. – Vol. 11, E59.
2. Detection of 12 Common Food-Borne Bacterial Pathogens by TaqMan Real-Time PCR Using a Single Set of Reaction Conditions / Y. Liu, Y. Cao, T. Wang [et al] // *Front. Microbiol.* – 2019. - Vol 10, 222.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-14-00287.